66

UEBER DIE

BETEILIGUNG VON HEFEN UND BAKTERIEN

AN DER

SAEUREBILDUNG IM TEIGE.

INAUGURAL-DISSERTATION

VERFASST UND DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTAET

DER

KGL. BAYER. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITAET WUERZBURG

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWUERDE

VORGELEGT VON

AUGUST ALBRECHT

AUS

WUERZBURG.

ACAD. MED. BAT. BIBL.

WUERZBURG.

FRAENKISCHE GESELLSCHAFTSDRUCKEREI, G. m. b. H.

1904.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent: Herr **Prof. Dr. Lehmann.**

Meinen teuren Eltern
in Liebe und Dankbarkeit.

Einleitung.

Aus dem Gebiete der Brotbereitung sind in neuerer Zeit eine grössere Reihe von Arbeiten sowohl im Hygienischen Institut der Universität Würzburg als auch ausserhalb ausgeführt worden. Speziell hat in neuester Zeit die Frage nach den Erregern und Erzeugern der Brotsäuren mehrfache Bearbeitung gefunden. Während Wolffin[1]) im Jahre 1893 in einer interessanten, unter Leitung des Herrn Professor Dr. Lehmann ausgeführten Arbeit, die zur Entdeckung der gasbildenden, teiglockernden, coliartigen Bakterien im Mehle geführt hatte, noch annahm, dass diese Bakterien wohl auch bei der Säurebildung im Mehle eine wesentliche Rolle spielten, da sie im Glase ziemliche Säuremengen zu bilden vermögen, wies Holliger[2]) nach, dass sicherlich andere Organismen bei der Säurebildung die Hauptrolle spielten, ja sie sogar wahrscheinlich ganz allein besorgen. Dieser schweizerische Forscher hatte namentlich folgende Organismen als wichtige Säurebildner im Mehle und Sauerteige erkannt:

a) ein typisches, durch wechselnde Länge und Unbeweglichkeit gekennzeichnetes Stäbchen, das er mit Hülfe der anaeroben Kulturmethode aus sämtlichen Sauerteigproben zu isolieren vermochte. Holliger nimmt an, dass diese Bakterienart, nach der zur Entwicklung gelangten Kolonienzahl zu schliessen, im Gramm Sauerteig millionenweise vertreten sein müsse. Nach seiner Angabe beträgt die Länge des Stäbchens in der Norm 3—4 μ, doch sei eben der Wechsel in der Grösse

---

[1]) Wolffin Alexander, bakteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggährung. Inaug.-Dissert. 1894. Arch. für Hygiene.

[2]) Holliger Wilhelm, Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggährung. Zentralblatt für Bakteriol., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten II. Abt. Bd. IX. 1902.

charakteristisch, die zwischen 1½—8 μ schwankt. Das Stäbchen kommt so „konstant und reichlich“ im Sauerteige vor, dass Holliger es einfach kurz als Sauerteigstäbchen bezeichnet. Verschiedene Anzeichen führt er an, die dafür sprechen, dass die Sauerteigstäbchen kräftige Säureproduzenten sind, z. B.:[1]) „kommen sie regelmässig im Sauerteig vor, der in älterem Zustande ausgesprochen sauer schmeckt.“ Weiter „entspricht die Trübung, die in älteren Traubenzuckeragarkulturen auftrat, sowie das Wachstum der Stichkultur überhaupt vollständig demjenigen der echten, nicht gasbildenden Milchsäurebakterien, d. h. die Kultur wächst gleichkräftig im ganzen Stichkanale, an der Oberfläche des Nährbodens bildet sich keine Ausbreitung.“ Zum Nachweis der Säurebildung verflüssigt er durch Aufkochen Traubenzuckeragarstichkulturen und titriert dieselben dann mit Phenolphtalein als Indikator. Zur Neutralisation waren mehrere ccm einer ¼ Normal-Natronlauge erforderlich, während der ungeimpfte Traubenzuckeragar neutral oder schwach alkalisch reagierte.

Holliger berichtet noch in seiner Zusammenfassung am Schlusse der trefflichen Arbeit über diese in jedem Sauerteige in ungeheuerer Anzahl sich befindenden Bakterien[2]), „dass sie kräftige Milchsäurebildner seien, welche die bei der Vermehrung des Teiges durch Mehl und Wasser zugeführten Bakterien in kurzer Zeit vernichten. Verschont bleiben nur Bact. lact. acidi Leichmann (Bact. Güntheri) und dessen nächste Verwandte, die selbst Milchsäurebildner sind.“

Holliger bezeichnet also als zweiten wichtigen säurebildenden Organismus im Sauerteige:

b) das Bact. Güntheri. Auch dieser bildet gleich dem unter a) erwähnten Sauerteigstäbchen kein Gas, dagegen kräftig Säure. 3 ccm damit geimpfte Traubenzuckerbouillon wird durch 2,1 ccm 1/10 n Natronlauge neutralisiert und Milch fest coaguliert in 2—3 Tagen.

In einer grösseren Arbeit hat Levy[3]) im hygienischen Institute der Universität Würzburg, im Jahre 1903 sich

---

[1]) Holliger l. c. p. 424.

[2]) Holliger l. c. p. 535.

[3]) Levy Eritz, Neue Beiträge zur Bakteriologie der Mehlteiggärung und Sauerteiggärung. Arch. für Hygiene. Bd. 49.

überzeugt, dass in der Tat die coliartigen Organismen, denen er ein spezielles Studium gewidmet hat, bei der Säurebildung nur eine untergeordnete Bedeutung haben könnten. Er hat die wichtigsten Säurebildner nur am Schlusse seiner Arbeit gestreift und etwa folgendes über sie angegeben:

Er fand, dass in spontan gährenden Teigen als Gährungserreger neben dem coli-ähnlichen Bact. levans Lehmann und Wolffin, das er als Bact. coli-albidoliquefaciens zu bezeichnen vorschlägt, in grösserer Menge regelmässig ein gelbe Kolonien bildendes Stäbchen vorkommt. Dasselbe bildet keine Sporen, wächst fakultativ anaerob, verflüssigt Gelatine und vergärt Trauben- und Milchzucker. Levy bezeichnet dieses Stäbchen kurz als gelben Gasbildner und unterscheidet von ihm ein zweites gelbe Kolonien bildendes Kurzstäbchen, da das letztere bei Fehlen von Gasbildung Säure bildet, und bezeichnet dieses als gelben Säurebildner. Bei der Frage, ob die Säuremengen, welche die vier von ihm beschriebenen Arten (Bact. coli, B. coli-albidoliquefaciens, gelber Gasbildner, gelber Säurebildner) bilden, eine praktische Bedeutung für die Brotsäuerung haben, findet es Levy selbst als absolut unwahrscheinlich, dass die Säuremenge, welche stark saures Brot enthält, von den von ihm studierten Säurebildnern gebildet werden. Auch ihm scheinen die von Holliger durch anaerobe Züchtung im Sauerteig gewonnenen Sauerteigstäbchen, sowie Bact. Güntheri (Lehmann und Neumann) die wichtigsten Säurebildner zu sein. Er findet aber auch zwei andere Arten: zarte, gut in Zuckerbouillon wachsende Diplococcen, die kräftige Säurebildner sind, da 3 ccm einer mit ihnen geimpften Traubenzuckerbouillon durch 2,0 : 3 ccm einer Laktosebouillon durch 1,2 ccm Normalnatronlauge neutralisiert werden; ausserdem auch einmal im Gegensatze zu Holliger eine gasbildende unbewegliche Art: Bact. acidi lactici, das dem Bact. coli commune vollkommen analog ist. Er kommt zu dem Schlusse, dass die von Holliger gefundenen 2 Arten die kräftigsten Säurebildner sind. Ob daneben noch andere Mikroorganismen, speziell die Gas- und Säurebildner der Coligruppe, ob nicht vielleicht auch sporentragende Arten an der Säurebildung beteiligt sind, müssten erst weitere Untersuchungen mit Berücksich-

tigung qualitativer und quantitativer Analysen der gebildeten Säuren lehren.

Endlich hat der russische Oberstabsarzt Dombrowsky[1]) im Sommer 1903 im hygienischen Institute zu Würzburg gefunden, dass auch eine Reihe von Hefen auf zuckerhaltigen Nährböden und auch im Teige nicht unerhebliche Säuremengen bilden, und dass auch bei Symbiosen von B. coli mit Hefe grössere Säuremengen gebildet werden als von Hefe allein, ja es lieferte sogar ein Mehl, das man ohne Sterilisation unter Zusatz von nicht sterilisiertem Wasser hatte gähren lassen, etwas niedrigere Säurezahlen als die gleiche Mischung unter Zusatz von etwas Hefe.

Bei dieser Sachlage schien es Herrn Professor Dr. Lehmann wünschenswert, folgende Fragen einer experimentellen Behandlung unterziehen zu lassen:

1. Bilden die Hefen wirklich nennenswerte Mengen flüchtiger Säuren (Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure u. dgl.) oder ist nicht vielleicht die von ihnen gebildete Säure zum grössten Teil als Kohlensäure zu bezeichnen? Es schien dies aus dem Grunde nicht unmöglich, als alle Titrierungen von Dombrowsky unter Verwendung von Phenolphtalein als Indikator angestellt sind. und Phenolphtalein reagiert bekanntlich auch sehr empfindlich auf Kohlensäure.

2. Die von Levy begonnenen Untersuchungen nach den stärkeren Säurebildnern im Mehle sollten für Würzburger Verhältnisse weitergeführt und womöglich zum Abschlusse gebracht werden. Auf Vorschlag meines verehrten Lehrers, des Herrn Professors Dr. Lehmann, wählte ich die Beschäftigung mit diesen Aufgaben mir als meine Doktordissertation, obwohl ich mir sagen musste, dass die hier in Frage kommenden bakteriologischen Untersuchungen wohl so schwierige seien, dass sie an die Kräfte eines Anfängers grosse Anforderungen stellen. Leider zeigte sich diese Befürchtung nicht als unbegründet. Obwohl ich in der bakteriologischen Technik einigermassen ausgebildet zu sein glaubte, vergingen Monate, bis ich in den Besitz von Kulturen kam, die den gesuchten Säurebildnern entsprachen.

---

[1]) Dombrowsky, Einige Beiträge zur Kenntnis der Teig- und Brotsäuren. Arch. für Hygiene, Bd. 50.

Auch die technischen Aufgaben: Herstellung von sterilem Mehl, Bestimmung der gebildeten Säuremengen wollten anfangs nicht recht befriedigend ausfallen. Erst in der letzten Zeit erhielt ich erfreulichere Resultate. Leider zwangen mich zu meinem lebhaften Bedauern äussere Verhältnisse, um diese Zeit die Arbeit abzubrechen, als sie gerade grössere Erfolge zu versprechen schien. Ich bin mir sehr wohl bewusst mit den folgenden Ausführungen wieder nur einige kleine Beiträge zu den schwierigen Fragen zu liefern. Hoffentlich gelingt es meinem Nachfolger im hygienischen Institut zu Würzburg den von mir berührten Gebieten noch wichtigere und sicherere Resultate abzugewinnen. Für das, was ich mitteile, glaube ich allerdings einstehen zu können. Doch liegen die Verhältnisse so kompliziert, dass wohl auch bei mir noch der eine oder andere Irrtum mit unterlaufen sein kann.

A. Methodik der Arbeiten mit Gelatine und Agar.

Zunächst stelle ich in einem Abschnitt alle methodologischen Angaben zusammen. Die verwendeten Nährböden waren die üblichen: Fleischextraktpeptongelatine, ebenso Fleischextraktpeptonagar, in der Regel zu Gährungszwecken mit 1 % oder 2 % Traubenzucker versetzt und vielfach nicht oder unvollständig gegen Phenolphtalein neutralisiert. Es wurde also meist mit sogenannten sauren Nährböden gearbeitet. Mit den genannten Nährböden suchte ich häufig unter Kreidezusatz die säurebildenden Organismen teils in anaeroben, teils in aeroben Kulturen zu gewinnen, wobei mir eine Aufhellung der Kreide um die Kolonien als Fingerzeig für die säurebildende Kraft der betreffenden Kolonien galt. Auch Lakmusfärbung der Nährböden habe ich gelegentlich zu gleichem Zwecke verwendet. Die anaerobe Züchtung wurde in Plattenkulturen vorgenommen, die Platte in den Exsiccator über Pyrogallussäure gestellt. Zur Isolierung von Hefen wurde nichtneutralisierte Bierwürzegelatine verwendet.

Vielfach zog ich auch flüssige Nährböden in Anwendung, vor allem Zuckerfleischextraktbouillon, besonders für die Versuche, etwas Quantitatives oder Qualitatives über die Säurebildung zu erfahren.

B. Sterilisieren des Mehles.

Ausführlicher will ich über meine Versuche berichten, steriles Mehl herzustellen. Während vor Jahren im hiesigen hygienischen Institute Wolffin [1]) treffliche Resultate durch Mehlsterilisation mit Aether erhalten hat, Resultate, welche seitdem auch Levy und Holliger [2])

---

[1]) Wolffin l. c. p. 40.
[2]) Holliger l. c. p. 410.

bei ihren Studien wieder erhalten haben, war es Dombrowsky wie auch Herrn Professor Dr. Lehmann in einer Reihe anderer Versuche nicht gelungen, gewisse Mehlsorten durch Aether, selbst bei längerer Anwendung, zu sterilisieren. Auch Budinoff [1]) konnte mit Aether zu keinem guten Resultate kommen und kein sterilisiertes Mehl bekommen. Auch noch nach 14, 16, selbst 46 Tagen ständigen Ueberschichtens mit Aether erwiesen sich gewisse Mehlsorten als nicht steril, wie Dombrowsky angibt. Offenbar enthalten diese Mehlsorten sehr unempfindliche Sporen. Dagegen kam Dombrowsky zu sehr guten Resultaten durch Anwendung des Autoklaven. Es ist natürlich ein Lapsus calami, wenn Dombrowsky [2]) in seiner Arbeit davon spricht, dass er im Autoklaven bei trockener Hitze sterilisiert habe. Er verfuhr so, dass er je 50 g Roggen- oder Weizenmehl in einem Erlenmeyer'schen Kölbchen in den Autoklaven setzte, den Dampfdruck langsam auf 3 ½ Atmosphären (139,2 ° C.) steigerte und das Mehl unter diesem Drucke ungefähr 3 Minuten lang hielt. Dann wurde nach Abdrehen der Flamme der Dampf langsam abgelassen und so der Ueberdruck erniedrigt und aufgehoben. Das in dieser Weise behandelte Mehl zeigt sich in der Tat steril, wie noch weiter unten erörtert wird. Allein es zeigt schon beim äusserlichen Betrachten nicht unwesentliche Veränderungen hinsichtlich der Farbe und Consistenz durch die immerhin beträchtliche Temperatursteigerung. Dementsprechend hat Dombrowsky eine Steigerung des Zuckergehaltes im sterilen Mehl um etwa 10 % nachgewiesen. Namentlich der Umstand, dass das sterilisierte Mehl im Erlenmeyer'schen Kölbchen eine kompakte, sehr fest zusammenhängende Masse bildet, erst durch langes, mühseliges Schütteln wieder wirklich in Mehl, d. h. in eine feine gleichmässig pulverisierte Masse verwandelt werden kann, veranlasste mich, nach gewissen Modifikationen zu suchen, durch die dieses lästige Zusammenbacken vermieden werden könnte. Dombrowsky gibt allerdings an, dass das Mehl nach mehrmaligem gründlichem Schütteln in dem Kolben sein früheres

[1]) Budinoff: Die Mikroorganismen der Schwarzbrotgährung. Zentralblatt für Bakteriologie II. Abt. Nr. 14/15. p. 458.

[2]) Dombrowsky l. c. p. 109.

Aussehen wieder angenommen habe. Allein so einfach ging die Sache bei meinen Untersuchungen doch nicht. Herr Professor Dr. Lehmann vermutet, dass Dombrowsky in Wirklichkeit bei niederer Spannung als 3½ Atmosphären gearbeitet habe, wie er angibt. Es stand damals dem Institute nur ein älterer, kleinerer Autoklav zur Verfügung, dessen altes Manometer nicht genau den Spannungsgrad anzeigte.

Hauptsächlich war es mein Bestreben, zu versuchen, ob es nicht gelingen möchte, im Autoklaven auch bei geringerem Dampfdruck und Erhitzen wirklich steriles Mehl zu bekommen. Ich setzte nun meine Mehlproben im Erlenmeyerschen Kölbchen wie vorher im Autoklaven einem Ueberdrucke von 2½, 2 bis 1½ Atmosphären aus, steigerte somit die Temperatur nur jeweils auf 127°, 120° und 111° Celsius. Diesem Druck blieben die Kölbchen aber etwas länger als nach dem Dombrowsky-schen Verfahren (3 Minuten) d. h. ungefähr 15—20 Minuten ausgesetzt. Dabei zeigte schon äusserlich das Mehl ein viel weniger dunkles gebräuntes Aussehen, auch war es nicht in so fester Masse zusammengebacken. Namentlich zeigte sich dieses bei Mehlproben, bei denen der Ueberdruck nur auf 2, oder gar nur auf 1½ Atmosphären gesteigert worden war. Es bedurfte eines viel weniger langwierigen Schüttelns, um das Mehl wieder in seine vorherige Pulverform zurückzubringen. Ausserdem fand sich eine Besserung, wenn ich das Mehl zu 50 g im Erlenmeyer'schen Kölbchen abgewogen im Trockenschranke vortrocknete, d. h. einer Temperatur von ungefähr 100° C. aussetzte, dann mit Wattepropf und einer weiteren dehnbaren Gummikappe darüber verschloss und nun erst im Autoklaven sterilisierte. Es scheint somit der Feuchtigkeitsgehalt des Mehles eine Rolle zu spielen. Dieser Feuchtigkeitsgehalt ist je nach der Luftfeuchtigkeit ein verschiedener und somit wird dieses störende Moment des Zusammenbackens nicht in allen Versuchen gleich gross sein.

Ich habe nun darüber zu berichten, in welcher Weise ich prüfte, ob das Mehl auch wirklich steril sei, sowohl wenn es genau nach den Angaben Dombrowsky's als auch, wenn es bei niederer Dampfspannung sterilisiert wurde. Zu meinen diesbezüglichen Versuchen verwendete ich vollkommen gleichartiges Mehl aus einem

grösseren Vorrat, immer zu 50 g abgewogen. Mehrere Stichproben wurden vor dem Sterilisieren ausgewählt und zeigten beim Titrieren keine Schwankung des Aciditätsgrades. Von dem bei verschiedener Dampfspannung sterilisierten Mehl wurden zunächst immer aerobe und anaerobe Platten gegossen und zwar wurde die erste mit einer grossen Oese Mehl beschickt, davon 5 Oesen in das dritte Röhrchen. Keine der Platten liess trotz genauester Durchsicht irgend welche Kolonien erkennen. Nur die Mehlpartikelchen erschienen in feinster Verteilung.

Die zweite Prüfungsmethode bestand in dem Impfen von sterilem Wasser mit solchem keimfrei gemachten Mehl und nachfolgendem Anlegen von Platten. Auch hier liess sich kein Wachstum bemerken. Ausser dem Plattenverfahren versuchte ich auch indirekt mich von der An- resp. Abwesenheit von Bakterien dadurch zu überzeugen, dass ich untersuchte, ob das mit sterilem Wasser befeuchtete „sterile“ Mehl noch Säure bildete. Ich verfuhr dabei so, dass 50 g Mehl im Autoklaven bei verschieden hoher Dampfspannung sterilisiert und hierauf mit 100 ccm sterilem Wasser versetzt in den Brutschrank (37°) 24 Stunden lang gestellt wurden. Zugleich wurde eine ebensolche Mehlprobe sofort mit 100 ccm sterilem Wasser versetzt und sofort titriert. Das Ergebnis war z. B. folgendes:

Mehl (50 g)	sofort titriert	nach 24 Stunden im Brutschrank
2 Atmosph.	8 ccm	10 ccm
1½ „	9 ccm	10 ccm

Die Zahlen beziehen sich auf $^1/_5$ Normalnatronlauge. Niemals zeigte die bebrütete Probe eine nennenswert höhere Säurezahl als die sofort titrierte,

Es lieferte mir demnach die Sterilisierung im Autoklaven bis herunter zu 2 und 2½ Atmosphären ein Mehl, das ich unbedenklich für steril halten darf. Ich habe dann allerdings in meinen weiteren Versuchen, um ganz sicher zu gehen, genau wie Dombrowsky, 3½ Atmosphären 3 Minuten lang einwirken lassen und durch scharfes Vortrocknen das Zusammenbacken möglichst zu vermeiden und nachher durch gewissenhaftes Schütteln das Mehl zu zerkleinern gesucht.

C. Bericht über die ausgeführten Arbeiten.

Ich teile meine Resultate, soweit sie publizierbar sind, in zwei Abschnitte ein: 1. Bilden die Hefen Säuren, und wenn ja, sind fixe Säuren darunter? 2. Welche Bakterien des Sauerteiges sind die intensivsten Säurebildner? Ferner berichte ich anhangsweise über einige Beobachtungen über die Löslichkeit der Säuren des unvergorenen Mehles in Wasser.

1. Bilden die Hefen in der Tat Säuren, und wenn ja, sind fixe Säuren darunter?

Die Reinkulturen der verschiedenen Hefestämme gewann ich mittels des Plattenverfahrens aus der gewöhnlichen käuflichen Bierhefe und aus dem in den Würzburger Bäckereien verwendeten Sauerteig. Da die Hefe gewöhnlich auf sauren Nährböden besser gedeiht als auf alkalischen oder neutralen, so habe ich für die Reinkulturen saure Nährböden verwendet mit einem Traubenzuckergehalt von 2%. Die ersten Platten nun, zur Gewinnung von Hefekolonien, wurden mit saurer Bierwürzegelatine angelegt (50 g Gelatine auf 1000 ccm Bierwürze). Die Kulturen waren alle im Schranke bei einer Temperatur von 22° gewachsen, die für das Gedeihen der Hefen eine sehr günstige zu sein scheint.

Ueber das Wachstum der verschiedenen Hefesorten ist gleich zu bemerken, dass überall die Bierhefe ein üppigeres und rascheres Wachstum aufweist, als die Teighefe. Auf den Würzegelatineplatten zeigten die Sauerteighefekolonien eine vollständig kreisrunde Form, während diejenigen der Bierhefen mehr unregelmässig konturiert und gelappt, auf Agar aber auch ziemlich kreisrund waren. Die Teighefekolonien waren bedeutend kleiner als die andern. Im mikroskopischen Bilde zeigte die Bierhefe eine längliche ovale Form, die Teighefe war aber kreisrund und viel kleiner als die andere Art.

Weder bei der Bierhefe noch bei der Teighefe zeigte sich eine Veränderung des Nährbodens, besonders fand sich keine Verflüssigung desselben.

Bei Stichkulturen in Bierwürzegelatine zeigt sich ausser dem langsameren Wachstum der Sauerteighefe kein anderer Unterschied. Beide Sorten wachsen gut.

Bei Kolonien auf Agarplatten fiel ebenfalls das langsamere Wachstum auf. Der verwendete Agar war nicht neutralisiert und infolgedessen schwach sauer. Bei einer Titrierung einer Probe (10 ccm) waren zur Neutralisation 1,2 ccm einer $^1/_{10}$ Normalnatronlauge erforderlich.

Während nun nach 24stündigem Stehen im Schranke die Teighefekolonien sich erst zu entwickeln begannen und nur ganz kleine Pünktchen darstellten, waren schon grosse, schöne Kolonien der Bierhefe gewachsen. Ausserdem ist zu bemerken, dass auf dem Agar auch die Bierhefekolonien ein mehr kreisrundes Aussehen zeigten.

Auch bei Stichkulturen in Agar zeigte sich das mehr oder minder rasche Wachstum der beiden Arten, und hier fiel vor allem die beträchtliche Gasbildung auf, die besonders intensiv bei der Bierhefe war und sogar den Nährboden zum Teil gesprengt hatte. Auf schräg erstarrtem Agar wuchsen beide Sorten gut und bedeckten nach einiger Zeit wie ein Rasen die ganze Oberfläche. Davon wurde nun das Material für die weiteren Untersuchungen gewonnen, bald eine Oese voll, bald die Abschwemmung einer ganzen solchen Schrägkultur.

Auf Fleischextraktbouillon mit 2 % Traubenzuckerzusatz wachsen beide Arten ziemlich schlecht. Es bildet sich nur ein spärlicher Bodensatz mit geringer Trübung des Nährbodens.

Eine Impfung auf Traubenzuckerbouillon, der als Indikator Lakmustinktur zugesetzt war, zeigte einen merklichen Umschlag von der blauen in eine rötliche Färbung.

Von den in der beschriebenen Weise gewonnenen Reinkulturen der beiden Hefearten wurde nun eine Oese voll auf Reagensgläschen mit je 10 ccm Traubenzuckerbouillon geimpft. Darnach wurden die Gläschen im Schranke bei 22° 24 bezw. 48 Stunden gehalten und hierauf in der aus der folgenden Tabelle ersichtlichen Weise auf ihre Acidität untersucht. Als ich die Röhrchen, in denen die Hefe in Form eines Bodensatzes gewachsen war, genau beobachtete, fiel mir auf, dass die Hefe sich wohl deutlich vermehrt hatte, dass aber nicht,

wie man es doch hätte erwarten sollen, ein deutliches Aufsteigen von Gasblasen in der Kultur zu sehen war, und es war mein erster Gedanke, dass meine Versuche wohl bewiesen, dass die gebildete Säure keine Kohlensäure, denn die hätte man ja sehen müssen, sondern eine andere fixe Säure sei. Es rochen auch die Bierhefekolonien deutlich sauer. Als mir aber Herr Professor Dr. Lehmann zeigte, wie beim leichten Umschütteln eines solchen Röhrchens Ströme von Gas an die Oberfläche entwichen, wurde mir klar, dass offenbar die von den Organismen gebildete Kohlensäure reichlich in der Flüssigkeit absorbiert sei und dass mein Schluss, die Acidität sei wohl nicht auf Kohlensäure zu beziehen, entschieden verfrüht sei. In einer Reihe von Versuchen, bei denen mich Herr Professor Dr. Lehmann stets unterstützte, fand sich denn auch, dass schon einfaches, längeres Umschütteln in der Kälte ausreiche, um den Säuregehalt erheblich zu reduzieren und dass man diesen Zweck in ähnlicher Weise durch ungefähr 10 Minuten langes Erwärmen im Wasserbade bei einer Temperatur von 100°, oder in einem solchen von 60° in ungefähr 20 Minuten, unterbrochen durch häufiges Schütteln, erreichen könne.

Meine Resultate sind in folgender Tabelle niedergelegt. Es wurde eine grössere Anzahl von Röhrchen von 2%iger Traubenzuckerbouillon mit Bierhefe infiziert und 24 Stunden im kühlen Schranke (22°) auf Rat des Herrn Professor Dr. Lehmann stehen gelassen.

Die Titrierung ergab:

Gläschen I nicht geschüttelt und vorsichtig titriert:
3,6 ccm 1/10 Normalnatronlauge

Gläschen II nicht geschüttelt und vorsichtig titriert:
4,6 ccm 1/10 Normalnatronlauge

Gläschen III nicht geschüttelt und vorsichtig titriert:
3,9 ccm 1/10 Normalnatronlauge

im Durchschnitt also: 4,0 ccm 1/10 Normalnatronlauge.

Weiter wurden 4 Röhrchen ebenso geimpfter Traubenzuckerbouillon auf 60° erwärmt und bei dieser Temperatur 20 Minuten lang gehalten und in kurzen Zeitabständen immer wieder durchgeschüttelt.

Hier ergab die Titrierung folgendes:

Gläschen I: 2,3 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.
„ II: 2,1 „ „ „
„ III: 2,4 „ „ „

2,3 ccm also im Durchschnitt.

Diese Durchschnittszahlen sowie die Durchschnittswerte, die aus dem Versuch mit Sauerteighefe erhalten wurden, sind in folgender Tabelle niedergelegt. Auch ist in einer Rubrik das Titrierresultat nach 48stündigem Stehen (22 ^{0}) angegeben. Die Zahlen beziehen sich auf $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Indikator Phenolphtalein. Die Acidität des ungeimpften Röhrchens ist stets abgezogen. Temperatur 22 ^{0}.

Tabelle.

	Bierhefe		Sauerteighefe	
	24 ^{h}	48 ^{h}	24 ^{h}	48 ^{h}
Ungeschüttelt	4,0	7,7	1,2	1,6
5 Minuten kalt geschüttelt	3,4	2,2	0,9	1,0
10 Min. in siedendem Wasserbade geschüttelt	2,2	1,6	0,8	0,8
20 Min. auf 60 ^{0} erwärmt und geschüttelt.	2,3	2,0	0,8	0,8

Oder es beträgt nach 24 Stunden bei der Bierhefe die auf Kohlensäure zu beziehende Acidität circa die Hälfte, bei der Teighefe ca. $^2/_3$ der Gesamtacidität.

Nach 48 Stunden ist die auf Kohlensäure zu beziehende Acidität nur noch 27 % bei der Bierhefe und 50 % bei der Teighefe. Es sättigt sich offenbar die Flüssigkeit immer stärker mit Kohlensäure.

In einem Falle habe ich noch nach achttägiger Gärdauer die Acidität beider Hefearten geprüft und dabei bezüglich der Kohlensäure dasselbe prozentuale Verhältnis zur Gesamtacidität gefunden wie bei 48stündiger Gärdauer.

Ich habe nur noch über die Versuche zu berichten, in denen ich die Säuremengen zu ermitteln suchte, welche im sterilen Mehl durch die Beimpfu g mit Hefe sich entwickeln. Die Gärdauer betrug 15 Stunden bei 37 ^{0} in der ersten Versuchsreihe. Zum Versuch dienten jedesmal 50 g Mehl und 100 g steriles Wasser, und die Infektion fand einmal mit der Ab-

schwemmung einer ganzen schrägen Agarkultur, das andere Mal mit einer Oese einer solchen Agarkultur statt. Die Hefenmasse war immer in 10 ccm 0,6⁰oiger steriler Natriumchloridlösung verteilt. Die Resultate darüber befinden sich in folgender Tabelle und sind umgerechnet auf 100 g Mehl und Normalnatronlauge.

Tabelle über Versuche mit Roggenmehl.

Ungeimpft	5,2	
	Geimpft mit einer Abschwemmung	Geimpft mit einer Oese
von Bierhefe	7.2	6.2
„ Weinmost	7.0	6.4
„ Sauerteig	6.4	6.2
„ Presshefe	9.2	7.8
„ einer Hefe von Dombrowsky (aus Presshefe)	9.6	7.6

Tabelle über Versuche mit Weizenmehl.

Ungeimpft	2,6	
	Geimpft mit einer Abschwemmung	Geimpft mit einer Oese
von Bierhefe	3.8	3.4
„ Weinmost	6.0	5.8
„ Sauerteig	6.4	4.2
„ Presshefe	4.6	4.4
„ einer Hefe von Dombrowsky (wie beim Roggenmehl)	6.0	3.8

Ich lasse gleich eine zweite Tabelle folgen, bei der der Gärversuch 48 Stunden fortgesetzt wurde, aber nur bei einer Temperatur von 23⁰.

	Geimpft mit einer Abschwemmung	Geimpft mit einer Oese
Roggenmehl mit Bierhefe	16.6	11.0
Weizenmehl „ „	12.2	7.8

Um zu entscheiden, ob die Säure in dem Mehl als Kohlensäure oder als fixe Säure anzusehen sei, wurde von der zweiten Serie eine 2. Probe 20 Minuten auf 60⁰ erwärmt und dann titriert.

Es ergab sich: Weizenmehl geimpft mit Bierhefe und zwar:

	mit einer Abschwemmung	mit einer Oese
nicht erwärmt	12.2	7.8
erwärmt	5.6	5.0

während nicht geimpftes Weizenmehl eine Acidität von 2.6 hat.

Gegen Ende meiner Untersuchungen habe ich mit Herrn Prof. Dr. Lehmann die ganze Angabe über Säurebildung im Teig durch Hefe noch einmal wiederholt. Es wurden 8 Partien Roggenmehl im Trockenschrank vorgetrocknet, zerrieben, dann nach Dombrowsky sterilisiert. Die diesmal erhaltenen Proben waren etwas dunkler gefärbt wie gewöhnlich und es scheint sich auch bei der Sterilisation der Säuregehalt ein wenig vermehrt zu haben, was ja sehr leicht begreiflich ist. Es wurde nun der Inhalt von zwei Kölbchen ungeimpft titriert, 3 Kölbchen mit Bierhefe infiziert und nach 48stündigem Halten bei 23° der Säuregehalt titriert. Ebenso wurden 3 Kölbchen mit Sauerteighefe behandelt. Die Zahlen, die ich mitteile, sind in Normalnatronlauge und für 100 g Mehl ausgedrückt.

Ungeimpft 9,4 / 9,4	Mit Bierhefe Abschwemmung	Mit Teighefe Abschwemmung
Titrierung des Kolbeninhalts ohne Schütteln und Umfüllen	21.2	17.2
Titrier. d. umgefüllten und etwas gerührten Inhalts	16.2	10.4
Titrierung des zirka 30 Minuten auf zirka 50° erhitzten u. gerührten Kölbcheninhalts	14.0	9.8

Subtrahieren wir die ursprüngliche Acidität des unvergohrenen Mehles, so finden wir als neu gebildete Säure

	Bierhefe	Teighefe
Gesamtsäure inkl. Kohlensäure	11.8	7.8
Fixe Säure bei vollkommener Austreibung der Kohlensäure	4.6	0.4

Für die Bierhefe wenigstens ist eine ganz deutliche Bildung von fixer Säure unverkennbar. Dass die Kohlensäure relativ niedere Werte zeigt, kommt jedenfalls zum Teil davon, dass in 48 h aus dem Teige ein grösserer Teil der gebildeten Kohlensäure entweicht.

Man sieht also auch hier, dass eine gewisse Menge der von der Hefe gebildeten Säure so schwer auszutreiben ist, dass sie den Eindruck einer fixen Säure macht. Auffallend ist, wie gering speziell bei der von mir untersuchten Teighefe die Bildung fixer Säuren in Mehl-Wasser-Gemischen war, entschieden geringer als in Zuckerbouillon. Die Mehrzahl der Versuche wurde auf die Abwesenheit von Bakterien dadurch kontrolliert, dass kurz vor der Titrierung ein Strichpräparat gefärbt und mikroskopisch untersucht wurde. Dasselbe zeigte stets reichlich Hefe, keine Bakterien.

Aus unseren Versuchen ergibt sich freilich, dass die von Dombrowsky gefundenen Säuremengen zu einem nicht unbeträchtlichen Teil als Kohlensäure zu bezeichnen sind. Aber es ist doch in den allermeisten Versuchen, sowohl bei der Teighefe als namentlich bei der Bierhefe eine merkliche Bildung von fixen Säuren vorhanden, die durch mässiges Erhitzen und starkes Schütteln nicht ausgetrieben werden können, nachgewiesen.

Herr Professor Dr. Lehmann veranlasste mich nun, diesen Säuren, wenigstens bei der Bierhefe, etwas näher nachzugehen und wir haben deshalb einigemale 100 ccm Bouillon mit Hefe geimpft und nach 48stündigem Stehen im Brutschrank die Masse destilliert und dabei folgende Resultate bekommen:

Die 100 ccm Bouillon zeigten einen ziemlich dicken Bodensatz von Hefe und nur eine normale Entwicklung von Gasbläschen. Der Geruch erinnert lebhaft, obwohl von Bierhefe gewonnene Reinkulturen verwendet worden waren, an gärenden Weinmost. Zunächst wurde durch das Kölbchen ein langsamer Strom kohlensäurefreier Luft durchgeleitet, ohne die Temperatur des Kölbchens zu erhöhen. Die durchgesaugte Luft passierte hintereinander drei lange Pettenkofersche Barytröhren, die mit 250, 200, 150 ccm Barytwasser gefüllt waren. In

wenigen Augenblicken war der Inhalt der ersten Röhre auffallend getrübt. Die zweite trübte sich langsamer, die dritte blieb, obwohl am Schluss der Versuchszeit das Kölbchen vorsichtig bis auf etwa 40° erwärmt und dabei tüchtig umgeschüttelt wurde, vollständig klar. Der Versuch wurde eine starke halbe Stunde fortgesetzt und zum Schluss vorübergehend das Kölbchen direkt mit der letzten klar gebliebenen Barytröhre verbunden, während Röhre I und Röhre II ausgeschaltet wurden. Die Tatsache, dass der Röhreninhalt vollständig klar blieb, bewies, dass die Austreibung der Kohlensäure vollständig gelungen war. Der Inhalt der drei Röhren wurde vereinigt und absitzen lassen, hierauf unter Verwendung von Phenolphtalein als Indikator titriert.

50 ccm Barytwasser verbrauchten, ehe sie mit Kohlensäure in Berührung waren, 29,7 ccm einer $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. 50 ccm aus der Flasche, die zum Teil mit Kohlensäure gesättigt war: 21.1 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Es waren also in den 600 ccm Barytwasser $29.7 - 21{,}1 = 8.6 \times 12 = 103{,}2$ ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge in Form von Kohlensäure absorbiert, was 226 mg Kohlensäure entspricht.

Nachdem nun die Kohlensäure ausgetrieben worden war, wurde der Kölbcheninhalt, der noch deutlich seinen angenehmen Weinmostgeruch bewahrt hatte, in einen grösseren Kolben gegossen und nun im Wasserdampfstrom die flüchtigen Säuren abdestilliert. Dabei wurde am Anfange der Kolbeninhalt nur schwach erhitzt, später aber der Dampfstrom vermindert und der Kolbeninhalt durch eine starke untergestellte Flamme erwärmt, sodass am Schluss der 5 Destillierungen im Kolben nur etwa 30 ccm zurückblieben. Bei jeder Destillation wurden etwa 150—200 ccm übergetrieben.

Die Titrierung mit Phenolphtalein ergab zwei bemerkenswerte Befunde. Einmal war die erste Probe, die überging, auffallend schwach sauer und zweitens war bei der ganzen Titrierung bemerkenswert, dass das Verschwinden der Phenolphtaleinfärbung auf weiteren Alkali-Zusatz immer langsam und träge von statten ging. Wir können keine Erklärung dafür angeben.

Folgendes sind die erhaltenen Zahlen:

1.	Destillat	=	0,4
2.	„	=	4,1
3.	„	=	1,5
4.	„	=	2,3
5.	„	=	2,5
Zusammen		=	10,8 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

Die Destillation war unter fortwährender Anwesenheit von Herrn Professor Dr. Lehmann tadellos gelungen und jede Ueberhitzung des Kolbeninhalts war vermieden worden. Ebenso war auch der Kolbenrückstand nicht angebrannt. Derselbe zeigte keinen deutlichen Geruch nach Weinmost mehr und brauchte beim Titrieren 11,3 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

Es betrug also in 100 ccm 48stündiger Bierhefekultur auf Zuckerbouillon:

1. Die Acidität der Kohlensäure 103,2
2. der bei Siedetemperatur flüchtigen Säuren 10,8
3. die Acidität der nicht flüchtigen Säuren 11,3,

von der aber 3,0 ccm abzuziehen sind. Es ist dies die mit Phenolphtalein ermittelte Acidität des Kolbeninhalts vor seiner Beimpfung in unserem Falle. Also beträgt die Acidität der nicht flüchtigen Säuren 8,3. Somit haben wir eine Gesamtacidität von 122,3, von welcher 19% auf Säuren zu beziehen sind, die sicher nicht Kohlensäure sind, oder es ist $^1/_6$ der Acidität unserer Hefebouillonkultur auf die Bildung von Säuren zu beziehen, in denen in erster Linie flüchtige Essigsäure und nicht flüchtige Bernsteinsäure oder Milchsäure vermutet werden dürften.

Dass hier der prozentuale Anteil der Kohlensäure an der Gesamtacidität noch mehr war als wie im Reagensglas, dürfte sich einmal dadurch erklären, dass die Kohlensäure hier auf das sorgfältigste ausgetrieben worden war und dass vermutlich die regelmässige Form des Gärgefässes mit der relativ kleinen Oberfläche und relativ kleinen Wandfläche eine Sättigung der Flüssigkeit mit Kohlensäure mehr begünstigt als die zylindrische Form des Reagensglases. Doch sind darüber von mir keine speziellen Versuche ausgeführt.

2. Versuche über die Säurebildung durch Bakterien.

Ich muss mich hier mit der kurzen Mitteilung begnügen, dass ich nichts wesentlich Neues über diesen Abschnitt mitzuteilen habe. Es gelang mir in einer grösseren Anzahl Bact. Güntheri oder einem diesem nahe stehenden Organismus von guter Gramfärbbarkeit auf anaeroben Zuckerkreideplatten zu züchten. Auch fanden sich auf meinen Platten dann und wann Organismen, die mit Holligers langem Säurestäbchen identisch zu sein schienen, jedenfalls sporenfrei waren, Fäden bildeten und nach Gram ausgezeichnet färbbar waren. Warum mir in meinen vielen Versuchen mit Sauerteig die Isolierung dieser Organismen nicht jedesmal, sondern nur relativ selten gelang, kann ich nicht sagen. Ich darf nicht verschweigen, dass mir öfters Versuchsfehler unterlaufen sind. Doch scheint auch Sauerteig vorzukommen, in dem es auch dem Geübten nicht gelingt, ein positives Resultat zu erzielen. Es hatten nämlich auch Herren, die mir freundlicher Weise behilflich waren und über deren Vertrautheit mit der Methodik kein Zweifel war, einige Male Misserfolge, über deren Ursache weiter nachgeforscht werden muss. Mit einer Kultur einer dem Bact. Güntheri nahestehenden Bakterienspezies habe ich einen Säurebildungsversuch mit sterilem Mehl gemacht und dabei eine Acidität von 21,4 (Oese) resp. 24,6 ccm (Abschw.) Normalnatronlauge erhalten, Säurewerte von einer Höhe, wie sie weder bei dem Teig bewohnenden Bact. coli, noch bei der Hefe gebildet werden, selbst wenn man bei letzterer die Kohlensäure mit in Anrechnung bringt.

Anhang.

Einige Beobachtungen über die Löslichkeit der Säuren des unvergorenen Mehles in Wasser.

Anhangsweise teile ich noch meine Versuche mit, die ich auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Lehmann über die Natur der Säuren des unvergorenen Mehles angestellt habe. Dombrowsky[1]) hatte gefunden, dass man durch Titrierung des gesamten Mehles mit Wasser unter Verwendung von Phenolphtalein als Indikator wesentlich höhere Säurewerte bekommt (ungefähr $^{5}/_{3}$ mal so viel) als wenn man, wie Scherpe[2]) verfuhr, nur die wässerigen Auszüge des Mehles berücksichtigt.

Dombrowsky hatte dann weiter gezeigt, dass, wenn man nach Scherpe längere Zeit Mehl mit kaltem Wasser extrahiert, in dem Bodensatz die Säuremenge steckt, die er bei seinen Bestimmungen mehr gefunden hatte. Es war nun die Frage, ob der in dem extrahierten Mehl sitzende saure Körper unlöslich oder nur schwer löslich in Wasser sei. Dazu schien eine geeignete Methode die zu sein, welche Dombrowsky zur Bestimmung der Säure des gärenden Teigs angewendet hatte. Wir verfuhren so, dass 50 g Mehl mit 100 g Wasser angerührt wurden, kurze Zeit stehen blieben und dass dann dieser plastische Teig in ein Coliertuch gehüllt und unter Wasser ausgeknetet wurde. Die angewendete Methode[3]) ist im wesentlichen die, welche zur Kleberbestimmung angewendet wird.

Ich habe nun zwei Versuche ausgeführt, einen mit Roggen-, einen zweiten mit Weizenmehl.

---

[1]) Dombrowsky l. c. p. 100.

[2]) Scherpe, die chemischen Veränderungen des Roggens und Weizens beim Schimmeln und Auswachsen. Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 15 pg. 401.

[3]) Lehmann Prof. Dr., Die Methoden der prakt. Hygiene p. 417.

Der Versuch wurde in der Weise gemacht, dass der in einem Coliertuche befindliche Teig unter destilliertem Wasser in einer Schale immer so lange ausgeknetet wurde, bis das Wasser in der Schale an Aussehen und Eigenschaft schleimig geworden war.

Eine vorausgehende Titrierung des zu dem Versuche verwendeten Wassers ergab, dass zur Neutralisation 0,7 ccm einer $^1/_{10}$ Normalnatronlauge erforderlich waren, was natürlich sehr wohl in Rechnung gezogen werden müsste.

Die bei der Methode gefundenen Zahlenwerte waren folgende:

Ausknetung in der ersten Schale:	3,9	ccm
„ „ „ zweiten „	5,0	„
„ „ „ dritten „	9,4	„
„ „ „ vierten „	2,0	„
Zusammen	20,3	ccm.

Davon sind abzuziehen für das verwandte Wasser 0,7 × 4 = 2,8

17,5 ccm, der geringe Rückstand in Tuch benötigt noch 2,0 ccm

Somit zusammen 19,5 ccm.

Die Zahlen beziehen sich auf 50 g Mehl und $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

Also ist das Resultat auf 100 g Mehl und Normalnatronlauge bezogen 3,9 ccm Normalnatronlauge.

Die direkte Titrierung der ganzen Mehlmenge (50 g) ergab 1,8 oder (auf 100 g umgerechnet) 3,6 ccm n Na OH.

Auf die Frage, ob schwer, aber doch lösliche Körper an der Acidität des Mehles schuld seien, gibt der Versuch keine Auskunft, weil schliesslich gar nichts im Coliertuch zurückblieb. So muss der gleiche Versuch mit Weizenmehl wiederholt werden, wobei sich der Kleber vom übrigen Materiale trennen lässt. Beim Roggenmehl blieb im Tuch als V. Probe nur ein klein wenig Kleie und einige Sandkörnchen zurück. Diese Probe reagiert auch sehr schwach sauer. Es ist nach diesem Versuch sowohl möglich, dass die Mehlsäuren löslich sind, als auch, dass sich feinste, sauer reagierende, feste Körper durch das Tuch durchpressen lassen.

Die Durchknetung von Weizenmehl unter den gleichen Versuchsbedingungen ergibt das folgende Resultat:

Ausknetung in der 1. Schale:	10,0 ccm $^{1}/_{10}$ norm Na OH	
" " " 2. "	0,9 "	
" " " 3. "	1,0 "	
" " " 4. "	1,1 "	
" " " 5. "	3,5 "	
	16,5 ccm.	Davon für das verwendete Wasser abzuziehen $0{,}7 \times 5 =$
	3,5	
	13,0 ccm $^{1}/_{10}$ n Na OH.	

Auf 100 g Mehl und Normalnatronlauge bezogen 2,6 ccm.

Die direkte Titrierung der gleichen Mehlmenge hatte ergeben:

1,5, bezw. 3,0 ccm n Natronlauge zur Neutralisation erforderlich.

Die Ausknetung in der fünften Schale beim obigen Versuche ist die des Weizenmehlrückstandes, also des Klebers.

Die Versuche zeigten also:

1. Dass die Differenz zwischen dem direkten Titrieren und dem Verfahren der mehrmaligen Ausknetung eine minimale ist und vollkommen unter die Versuchsfehler fällt.

2. Wie für Roggenmehl nicht anders zu vermuten ist, blieb in dem Tuch nur ein ganz kleiner Rest zurück von einer sehr geringen Acidität und wir mussten schliessen, dass das Mehl entweder einen schwer löslichen oder einen unlöslichen, aber sehr leicht durch ein Tuch zu pressenden sauren Körper enthält.

Bessere Aussichten schien der Versuch mit Weizenmehl zu bieten, weil sich der Weizenkleber, der einen erheblichen Teil der Eiweissstoffe des Weizens enthält, bekanntlich nach der angewandten Methode vollständig auskneten lässt. Etwa 30 % der gesamten Acidität des Weizenmehles waren in dem ziemlich erheblichen Kleberrückstande vorhanden. Auch dieser Versuch gestattet also kein klares Urteil darüber, ob der sauere, nicht leicht im Wasser lösliche Körper des Weizenmehles unlöslich oder schwer löslich ist. Er scheint aber nach diesem Versuch mindestens teilweise unlöslich zu sein

und wohl, wie dies ja Dombrowsky und Herr Professor Dr. Lehmann zum Teil schon angedeutet haben, teilweise auf Eiweisskörper bezogen werden zu müssen. Zum Schlusse sei es mir noch gestattet, auch an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Lehmann meinen innigsten Dank auszusprechen für die freundliche Ueberlassung des Themas und die vielfachen, zeitraubenden Unterstützungen bei Ausführung der Untersuchungen. Ebenso danke ich auch Herrn Dr. A. Jorns, Assistent am hygienischen Institut, für seine liebenswürdige Unterstützung und Kontrolle.

Lebenslauf.

Ich, August Albrecht, bin geboren am 28. Februar 1879 zu Würzburg, als Sohn des Privatiers P. Albrecht in Würzburg. Nach Besuch der Volksschule und des Gymnasiums zu Würzburg und Münnerstadt, erwarb ich mir am 14. Juli 1899 das Reifezeugnis in Münnerstadt. Dann bezog ich im Oktober 1899 die Universität zu Würzburg und bestand dortselbst 1901 die ärztliche Vorprüfung. Im Sommersemester 1902 studierte ich an der Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin. Dann setzte ich meine Studien zu Würzburg wieder fort und bestand dortselbst 1904 die ärztliche Staatsprüfung. Am 31. August 1904 wurde ich als Arzt approbiert.

Vorstehende Dissertation habe ich unter der Leitung des Herrn Prof. Dr. Lehmann verfasst.